转 Bt 基因水稻对稻纵卷叶螟幼虫体内三种保护酶活性的影响

张　巍[#]，张志罡[#]，付秀芹，刘立军，颜亨梅[*]
（湖南师范大学生命科学学院，长沙　410081）

摘要：用转 *Cry1Ab/Cry1Ac* 基因水稻的叶片饲喂稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis*（Guenée）幼虫，采用酶活力测定方法研究了转基因水稻对稻纵卷叶螟幼虫体内 3 种保护酶（SOD，CAT 和 POD）活性的影响。结果表明：取食转基因水稻叶片 4 h 后，幼虫体内 SOD 酶活性比对照提高了 91.5%，与对照有显著差异；36 h 后活性达到最大值，但与对照差异不显著。取食转基因水稻叶片 24 h 后，幼虫体内 CAT 酶活性达到最大值且高于对照，但与对照差异不显著；48 h 后酶活性受到显著抑制，与对照差异显著。取食转基因水稻叶片 12 h 后，幼虫体内 POD 酶活性达到最大值，与对照差异不显著；48 h 后酶活性逐渐下降达到最小值，比对照下降 68.05%。实验同时测定了幼虫体内及其粪便中 Bt 毒蛋白含量的变化，结果表明取食转基因水稻叶片 12 h 后，随着大量取食进入体内的毒蛋白随粪便排出，幼虫体内的毒蛋白含量一直低于粪便中的含量，且在 24 h 时两者差异达到最大。由于 Bt 毒蛋白在幼虫体内的积累，扰乱了稻纵卷叶螟幼虫体内 SOD，CAT 和 POD 3 种保护酶的动态平衡，使虫体内自由基的清除遇到障碍，从而对其产生毒害作用。

关键词：转基因水稻；稻纵卷叶螟；保护酶；SOD；CAT；POD
中图分类号：Q966　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2008)10-1022-06

Effects of transgenic Bt rice on the activities of three protective enzymes in larvae of the rice leaffolder, *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera: Pyralidae)

ZHANG Wei[#], ZHANG Zhi-Gang[#], FU Xiu-Qin, LIU Li-Jun, YAN Heng-Mei[*] (College of Life Science, Hunan Normal University, Changsha 410081, China)

Abstract: The effects of transgenic rice on the activities of SOD, CAT and POD in *Cnaphalocrocis medinalis* larvae were studied by assaying enzyme activities after the 3rd instar larvae had been fed with leaves of transgenic and non-tarnsgenic rice (control) for different time. The results showed its SOD activity was significantly higher (91.5%) than that of control after the larvae fed on transgenic rice for 4 h and reached the maximum with a little difference from that of control after the larvae fed for 36 h. The CAT activity of larvae fed with leaves of transgenic rice reached the maximum and was a little higher than that of control after feeding for 24 h, but significantly lower than that of control after the larvae fed for 48 h. The POD activity of larvae fed with leaves of transgenic rice reached the maximum with a little difference from that of control after feeding for 12 h, but decreased by 68.05% after feeding for 48 h. Meanwhile we also assayed the variation of the Bt protein in the larval body and dejecta. By voidance of dejecta, the level of Bt protein in the larval body was always lower than that in dejecta after feeding for 12 h, and the difference between both reached the highest at 24 h after feeding. It was so inferred that the gradual accumulation of Bt protein in the larval body disturbed the dynamic balance of SOD, CAT and POD, baffled the clearance of free radicals and produced toxic effects

基金项目：国家自然科学基金项目(30570226)

作者简介：张巍，男，1982 年生，江苏泰州人，硕士，研究方向为生物安全评价，E-mail：froghappy1982@yahoo.com.cn；张志罡，男，1981 年生，甘肃通渭人，硕士，研究方向为生物安全评价，E-mail：zhangzhigangxyzy@163.com
同为第一作者 Authors with equal contribution
* 通讯作者 Author for correspondence，E-mail：yanhm03@126.com

收稿日期 Received：2008-05-21；接受日期 Accepted：2008-09-03

on *C. medinalis* larvae.

Key words: Transgenic rice; *Cnaphalocrocis medinalis*; protective enzymes; SOD; CAT; POD; enzyme activity

水稻 *Oryza sativa* 是世界上种植面积最大的粮食作物之一，全球大约有三分之一以上的人口以稻米为主食，中国是世界水稻种植大国，年种植面积约 3 000 万 hm^2，占粮食作物种植面积近 1/3，稻谷产量占粮食总产量的 45%左右（杨友才和周清明，2003）。全国每年水稻因病虫害危害造成的损失约 400～500 万 t，所以对水稻害虫的防治一直都是国内外十分关注的问题（王艳青，2006）。

稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis*（Guenée），是水稻生产中的一种主要害虫，幼虫在分蘖期、孕穗期和抽穗期危害叶片，一般可造成减产 2～3 成，严重时可达 5 成以上（艾国民和王恒亮，1998）。通过化学杀虫剂控制水稻害虫，不仅生产成本高，对生态平衡造成破坏，对人、畜健康危害严重，且导致害虫产生抗药性，加大了农药的用量，造成生态系统累积性污染的恶性循环（朱新生和朱玉贤，1997）。因此，培育具有抗虫能力的转基因水稻已成为控制水稻害虫的重要途径，转苏云金芽孢杆菌（*Bacillus thuringiensis*, *Bt*）基因水稻就是其中一种，其对水稻鳞翅目等害虫具有较高的抗性。转 Bt 基因水稻导入的是经过人为修饰的 δ-内毒素基因活性片段部分，且带有增强的表达启动子，编码的活性杀虫蛋白无需活化即可与靶标害虫中肠上皮细胞的受体结合，并发生作用而使细胞膜穿孔。消化道细胞内的离子浓度和渗透压平衡遭到破坏，使上皮细胞裂解，最终导致昆虫死亡（韩兰芝等，2006）。目前关于 Bt 杀虫蛋白对昆虫的作用机制大多数研究主要集中在昆虫组织病理学观察和杀虫蛋白与中肠上皮细胞膜之间的结合作用上，对昆虫的保护酶活性影响的研究报道虽有涉及但相对较少。保护酶是昆虫体内最主要的三大酶系之一，已经有报道证实昆虫的保护酶受 Bt 的影响而变化，可能直接参与了 Bt 杀虫蛋白的代谢作用并与抗性的产生有关（Ding *et al*., 2001；徐艳聆等，2006）。超氧化物歧化酶（SOD），过氧化氢酶（CAT）和过氧化物酶（POD）是生物体内普遍存在的 3 种防御氧化损伤的重要保护酶，SOD 的作用是把超氧阴离子（$O_2^{\bar{\cdot}}$）歧化成 H_2O_2，H_2O_2 能与 $O_2^{\bar{\cdot}}$ 形成毒性更强的羟基自由基（HO•），但细胞内的 CAT 可以将 H_2O_2 转化成水，生物体内的几种保护酶处于一种动态平衡状态，使自由基维持在一个低水平，起到保护生物机体的作用（李周直等，1994；Lozinskaya *et al*.，2004）。但当靶标害虫取食转 Bt 基因植物机体受到损伤后这种动态平衡可能受到破坏，从而过量的 $O_2^{\bar{\cdot}}$ 对生物产生损伤。

本文以稻纵卷叶螟作为稻田鳞翅目害虫的代表，研究了稻纵卷叶螟幼虫取食转 Bt 基因水稻后，体内 Bt 毒蛋白的含量变化及其对 3 种保护酶活性的影响，同时又进一步研究了 Bt 毒蛋白含量变化与酶活性变化之间的关系，旨在初步探明转 Bt 基因水稻对稻纵卷叶螟的杀虫机理。

1　材料与方法

1.1　供试水稻及虫源

转 *Cry1Ab*/*Cry1Ac* 基因水稻汕优 63（以下简称 Bt 水稻）与对照品种普通汕优 63 由华中农业大学生命科学学院提供。供试水稻在湖南师范大学动物生态实验室试验田种植，生长期不使用任何农药，其他为常规管理。稻纵卷叶螟采自湖南宁乡县植保站试验田，未使用任何杀虫剂。

1.2　稻纵卷叶螟幼虫的饲喂处理

取 Bt 水稻 3 cm 长的主茎顶端叶片用清水冲洗晾干后放入指管内，每管放 1 片叶片。取田间采集的个体大小基本一致的稻纵卷叶螟 3 龄幼虫，饥饿 24 h 后每管接 1 头幼虫。饲喂至 4，12，24，36 和 48 h 后取样，每个时间段取 4 头幼虫，其中 2 头用作酶源制备，另外 2 头用于 Bt 蛋白的提取并收集其粪便。样品置于 －20℃冰箱中冷冻贮存，每天投入新鲜叶片。对照用普通水稻的叶片饲养至相应的时间取样，其他实验条件相同。

1.3　幼虫体内及其粪便中 Bt 蛋白提取和含量测定

将待匀浆的稻纵卷叶螟幼虫用流动的蒸馏水冲洗，然后放在滤纸上吸干，用液氮快速冷却，置于匀浆器中，加 0.5 mL PBST 提取液，200 r/min 振荡 1 min 混匀，12 000 r/min 离心 2 min，取上清液 10 μL，用提取液稀释 51 倍待测。粪便中 Bt 蛋白的提取省去蒸馏水冲洗及液氮冷却两步骤，其余操作同上。Bt-Cry1Ab/Ac ELISA 平板试剂盒由美国 EnviroLogix 公司提供，包括 96 孔包被抗体的微孔板和配套试剂，按照试剂盒说明的方法进行测定。所有结果均

由酶标仪读取，设置波长为 450 nm 测定 OD 值，重复 3 次。以 OD_{450} 值的大小表示 Bt 蛋白含量的高低。

1.4 酶源制备

将待匀浆的稻纵卷叶螟幼虫（各时间段处理均取 2 头幼虫）用流动的蒸馏水冲洗，然后放在滤纸上吸干，用液氮快速冷却，置于匀浆器中，加入 0.02 mo1/L pH 值为 7.4 的 PBS 缓冲液（含 1% 聚乙烯吡咯烷酮）0.5 mL 冰浴匀浆，匀浆液于高速冷冻离心机上以 10 000 r/min（4℃）离心 20 min，取上清液作为酶源，稀释 10 倍冰浴待用。

1.5 酶活性测定

1.5.1 SOD 活性：反应总体积 3 mL，反应液中含 0.02 mol/L 磷酸盐缓冲液（pH 7.4），26 mmol/L 蛋氨酸，0.77 mol/L 氮蓝四唑（NBT），0.2 mL 酶液，最后加 0.8 mol/L 核黄素（含 1 mmol/L 的 EDTA）。置于 4 000 lx日光下进行光化学反应，反应温度 25℃，15 min，然后用黑暗终止反应，立即在 550 nm 下比色，重复 3 次。以 NBT 被抑制 50% 为一个酶活力单位。

1.5.2 CAT 活性：按略改进的程鲁京和孟泽（1994）方法测定。在最佳酶反应条件下，酶促反应后剩余的 H_2O_2 与钼酸铵形成稳定的黄色复合物，其颜色深浅与酶活性成反比。反应总体积 220 μL，在酶标板的空白孔 1 中加入预温的 100 μL 基液（65 μmol/mL H_2O_2），100 μL 钼酸铵，20 μL 酶液。空白孔 2 中加入 100 μL 基液，100 μL 钼酸铵，20 μL 0.02 mol/L 磷酸盐缓冲液（pH 7.4）。测定孔加入 20 μL 酶液，100 μL 基液，37℃准确保温 60 s 后，立即加入 100 μL 钼酸铵摇匀，排气泡，用 Bio-Tek808 型酶标仪在 405 nm 波长下测定 OD 值，重复 3 次。在本测定条件下，以每分钟分解 1 μmol 过氧化氢为一个酶活力单位。

1.5.3 POD 活性：按略改进的 Simon 等（1974）的方法测定。反应总体积为 3 mL，反应液中含 0.02 mol/L磷酸盐缓冲液（pH 7.4），90 mmol/L 愈创木酚，72 μmol/mL H_2O_2，0.5 mL 酶液，在 30℃下反应 30 min 后，在 470 nm 波长下测定 OD 值，重复 3 次。酶活力单位以每毫克蛋白每分钟在 470 nm 下的 OD 值表示。

1.6 酶源蛋白质含量测定

采用考马斯亮蓝 G-250 染色法（王淳本，2003）测定各处理的酶源蛋白质含量。

1.7 数据分析

采用 SPSS 13.0 分析软件进行采用统计和分析。

2 结果与分析

2.1 Bt 毒蛋白在稻纵卷叶螟体内及粪便中的累积动态

用 Bt 水稻叶片及对照水稻叶片饲喂稻纵卷叶螟幼虫 4，12，24，36 和 48 h 后，测定其体内及粪便中 Bt 毒蛋白的含量，其变化规律见图 1。

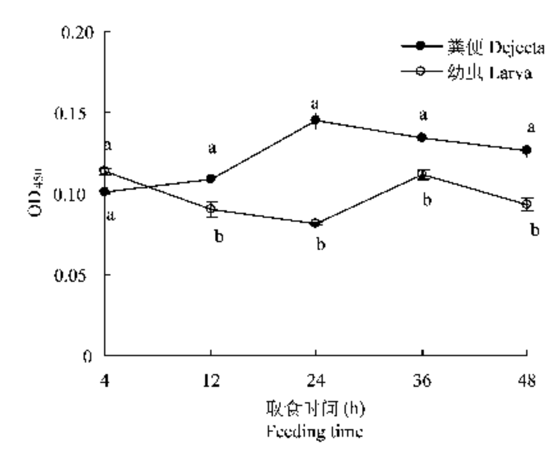


图 1 稻纵卷叶螟幼虫体内及粪便中 Bt 毒蛋白表达的时间动态

Fig. 1 The temporal dynamics of expression of Bt-toxin in the *Cnaphalocis medinalis* larvae and its dejecta

同一时间数据具有相同小写字母表示数据之间差异水平未达到显著（*t*-检验，$P > 0.05$）。下同。Data（Mean ± *SD*）at the same time followed by the same small letter is not significantly different at $P > 0.05$ level by *t*-test. The same below.

由图 1 可知，稻纵卷叶螟幼虫取食 Bt 水稻叶片后不同时间段，在其体内及粪便中均能检测到 Bt 毒蛋白：4~24 h，幼虫体内的 Bt 蛋白含量缓慢下降，与此同时，粪便中 Bt 蛋白含量缓慢上升，说明大部分毒蛋白被排出了体外；24~48 h，粪便中蛋白含量平缓下降，幼虫体内含量先上升，然后下降。取食 12 h 后，随着大量取食进入体内的毒蛋白随粪便排出，幼虫体内的毒蛋白含量一直低于粪便，且在 24 h 时两者差异达到最大，表明被取食进入稻纵卷叶螟幼虫体内的 Bt 毒素仅有少部分被降解，还有一部分留在体内，对害虫形成毒害作用。

2.2 Bt 水稻对稻纵卷叶螟幼虫体内 SOD 活性的影响

用 Bt 水稻叶片及对照水稻叶片饲喂不同时间后测定稻纵卷叶螟幼虫体内超氧化物歧化酶活性的结果见图 2。

由图 2 可知，稻纵卷叶螟幼虫取食 Bt 水稻后，其中肠 SOD 活性的变化规律为：前 24 h 内酶活性

曲线平缓，24～36 h 活性上升，随后逐渐下降。用 Bt 水稻叶片处理 4 h 后，幼虫 SOD 活力比对照提高了 91.5%且显著高于对照组（$P<0.05$），此后趋于平缓下降，24 h 后平缓上升并在 36 h 时活性达到最大值，且与对照相比差异不显著（$P>0.05$）。

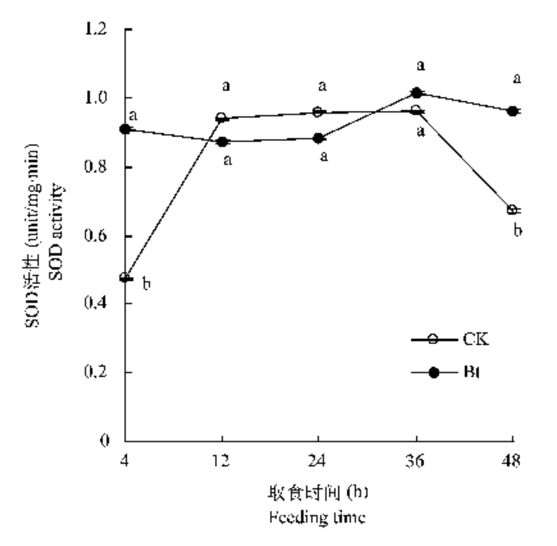


图 2　Bt 水稻对稻纵卷叶螟幼虫体内超氧化物歧化酶活性的影响

Fig. 2　The influence of Bt rice on the activity of SOD in the *Cnaphalocis medinalis* larvae

上述结果表明，稻纵卷叶螟幼虫取食 Bt 水稻后，在摄入 Bt 毒素的初期，可能由于毒素在其体内含量较少，故其 SOD 活性显著上升，后期虽然 SOD 活力有上升趋势且高于对照组，但差异未达显著水平（$P>0.05$）。该结果表明 Bt 水稻中的 Bt 毒蛋白抑制了 SOD 清除体内产生的 O_2^-，因而导致害虫中毒。

2.3　Bt 水稻对稻纵卷叶螟幼虫体内 CAT 活性的影响

用 Bt 水稻叶片及对照水稻叶片饲喂不同时间后测定稻纵卷叶螟幼虫体内 CAT 活性，结果见图 3。

由图 3 可知，稻纵卷叶螟幼虫在取食 Bt 水稻叶片 4～12 h 后，其体内 CAT 活性均低于对照且呈缓慢下降趋势，此后活性上升，并在 24 h 时达到最大值，此后一路下降并在 48 h 时低于对照组（图 3），且达到显著水平（$P<0.05$）。稻纵卷叶螟在取食 Bt 水稻 4～12 h 内，其体内 CAT 活性逐渐受到抑制，但抑制能力不强，并未达到显著水平。之后活力逐渐上升，在 24 h 达到顶峰，虽然高于对照组，但差异不显著。此后，取食 Bt 水稻与对照水稻叶片的幼虫体内 CAT 活性均下降。在 36 h 时，取食对照水稻的幼虫体内 CAT 活性急速上升，显著高于处理组（$P<0.05$）。由此可见，在处理后期，Bt 水稻中的 Bt 毒蛋白能明显抑制幼虫体内 CAT 活性。

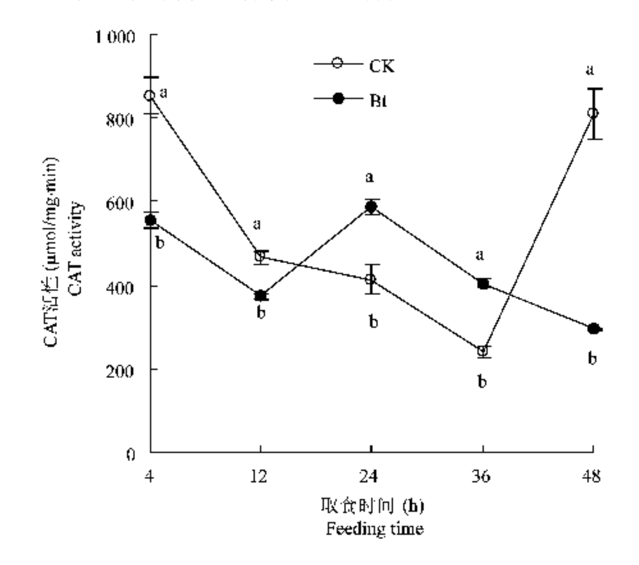


图 3　Bt 水稻对稻纵卷叶螟幼虫体内过氧化氢酶活性的影响

Fig. 3　The influence of Bt rice on the activity of CAT in the *Cnaphalocis medinalis* larvae

2.4　Bt 水稻对稻纵卷叶螟幼虫体内 POD 活性的影响

用 Bt 水稻叶片及对照水稻叶片饲喂不同时间后测定稻纵卷叶螟幼虫体内 POD 活性，结果见图 4。

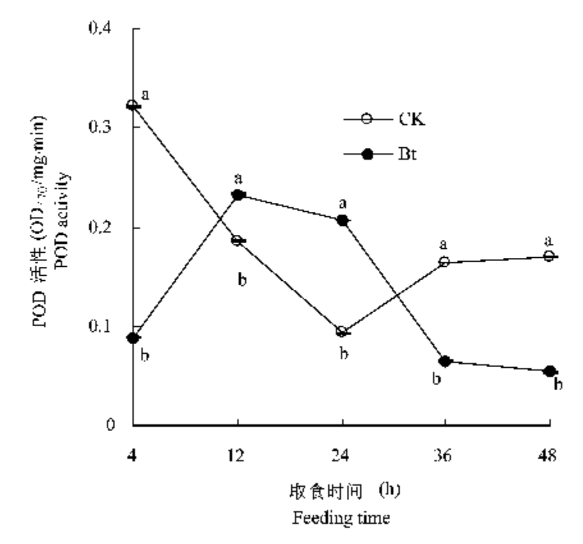


图 4　Bt 水稻对稻纵卷叶螟幼虫体内过氧化物酶活性的影响

Fig. 4　The influence of Bt rice on the activity of POD in the *Cnaphalocis medinalis* larvae

幼虫取食 Bt 水稻 4 h 后，其体内的 POD 活力显著低于对照组（$P<0.05$）；当试验持续 4～12 h，其体内 POD 活性快速上升并达到最大值，且高于对照组；12～24 h POD 活性缓慢下降，均高于对照；24～36 h 后急速下降，与对照组相比，在 36 和 48 h 时分

别下降了 60.04% 和 68.05%，且达到了显著水平（$P < 0.05$）。依据生化原理，POD 主要作用是清除生物体内代谢后期的有害物质。由此可见，随着取食时间的推移，Bt 毒蛋白在体内积累增多，抑制了幼虫体内的 POD 活性，从而打破了 3 种保护酶的动态平衡，干扰了机体的正常生理功能，最终导致幼虫中毒死亡。

3 讨论

人们对 Bt 伴胞晶体蛋白的杀虫机理已进行了较为详尽的研究，但它们与转基因植物所表达的 Bt 蛋白的杀虫机理可能在毒蛋白的数量和组分上存在差异。Bt 伴胞晶体蛋白经昆虫摄食后，毒蛋白的量可能远远大于转基因植物的表达量，而且 Bt 伴胞晶体蛋白经中肠碱性环境溶解、蛋白酶激活，释放出的活性毒素可能含有多个毒性组分。而转基因植物中表达的 Bt 蛋白的量是极低的，一般只占植物总可溶性蛋白的 0.001% ~ 0.1%（Boulter *et al*.，1990；Babu *et al*.，2003）。其表达的杀虫蛋白均为单一组分，害虫必须取食一定量叶片，经过杀虫蛋白在体内的累积后导致中毒进而对其产生杀伤作用（姜永厚等，2004）。

本文通过对稻纵卷叶螟幼虫体内及其粪便中 Bt 毒蛋白含量的测定发现，稻纵卷叶螟幼虫取食 Bt 水稻叶片不同时间段后，其体内及粪便中均能检测到 Bt 毒蛋白。整体趋势表现为：幼虫体内的 Bt 蛋白含量缓慢下降，与此同时，粪便中 Bt 蛋白含量缓慢上升，12 h 后，粪便中含量一直高于幼虫体内含量，说明大部分毒蛋白被排出了体外。结果表明取食进入稻纵卷叶螟幼虫体内的 Bt 毒素大部分随粪便排出，少部分被降解，其余一部分留在体内，对害虫形成毒害作用。

Ding 等（2001）研究了美国白蛾幼虫在取食转 Bt 和转 *CpTI* 基因杨树叶片后，中肠 SOD，CAT 和 POD 3 种保护酶活力在饲喂数小时后逐渐增加，随后下降；饲喂转 Bt 基因杨树叶片的幼虫，其中肠 SOD 和 CAT 活性峰值出现在饲喂后的 24 h，POD 活性峰值出现在饲喂后的 12 h；饲喂转 *CpTI* 基因杨树叶片的幼虫，其中肠 3 种保护酶活性高峰出现时间均较前者滞后 12 h。郭同斌等（2006）研究了转基因杨树对杨小舟蛾体内 3 种保护酶活力的影响，结果显示幼虫中肠 SOD 活力显著升高，而 CAT 和 POD 活力受到了显著抑制。本试验研究结果表明，稻纵卷叶螟幼虫取食 Bt 水稻叶片初期，体内 SOD 活力显著上升，而 CAT 和 POD 的活力低于对照，受到了抑制，其中 POD 活性受到显著抑制，这与上述研究结果一致。

SOD 能清除幼虫体内的 $O_2^{\cdot}$ 生成 H_2O_2，H_2O_2 与 $O_2^{\cdot}$ 形成毒性更强的 HO•，此时必须由 CAT 和 POD 来分解 H_2O_2，防止产生自由基毒害。因此，在取食中期，CAT 和 POD 活性有所上升，而在取食后期，随着取食叶片时间的延长及取食量的增加，由于 SOD 一直处于一个较高的水平，导致体内产生了大量的 H_2O_2，而此时 CAT 和 POD 活力受到抑制，活力显著低于对照，造成体内清除自由基遇到了障碍。因此，转基因杨树叶片表达的杀虫蛋白在被害虫摄入后，可扰乱幼虫中肠 SOD，CAT，POD 3 种保护酶系统的动态平衡，对害虫机体产生毒害作用。

结合 Bt 水稻中表达的 Bt 毒蛋白在稻纵卷叶螟幼虫体内积累和降解的试验结果，可以帮助分析稻纵卷叶螟幼虫体内 Bt 毒蛋白含量变化与保护酶活性变化之间存在的关系。本文发现稻纵卷叶螟幼虫对毒蛋白的防御代谢的临界点在取食后 24 h 左右，24 h 前处于主动防御代谢状态，表现在体内的保护酶系活性有上升趋势，究其原因，幼虫对毒蛋白的刺激表现出应激反应，采取主动防御对策，以升高保护酶活性的方式来保护和维持机体的正常功能；24 h 后，体内不断累积的毒蛋白量超过了其正常的保护能力，破坏了体内的防御系统，表现出体内保护酶系活性下降，加之取食量递减，导致 36 h 后体内和粪便中的毒蛋白含量呈下降趋势。随着 Bt 毒蛋白在虫体内的水解作用，所产生的毒素量不断积累，形成了虫体中毒状态的恶性循环，最终导致其死亡。

参 考 文 献（References）

Ai GM，Wang HL，1998. Synthetic preventing and curing technique of rice *Cnaphalocrocis medinalis*. *Pesticides*，37(5)：48.［艾国民，王恒亮，1998. 水稻稻纵卷叶螟的综合防治技术. 农药，37（5）：48］

Babu RM，Sajeena A，Seetharaman K，Reddy MS，2003. Advances in genetically engineered（transgenic）plants in pest management – an overview. *Crop Protection*，22：1 071 – 1 086.

Boulter D，Edwards GA，Gatehouse AMR，Gatehouse JA，Hilder VA，1990. Additive protective effects of different plant derived insect resistance genes in transgenic tobacco plants. *Crop Protection*，9：351 – 354.

Cheng LJ，Meng Z，1994. Molybdate colorimetric method for determination of catalase in serum. *Chinese Journal of Clinical Laboratory Science*，12（1）：6 – 8.［程鲁京，孟泽，1994. 钼酸铵显色法测定血清过氧化氢酶. 临床检验杂志，12（1）：6 – 8］

Ding SY，Li HY，Li XF，Zhang ZY，2001. Effects of two kinds of transgenic

poplar on protective enzymes system in the midgut of larvae of American white moth. *Journal of Forestry Research*，12（2）：119－122.

Guo TB，Ji BZ，Jiang JH，Du W，Zhu GQ，Huang MR，2006. Effect of transgenic poplars on the activities of three protective enzymes in *Micromelalopha troglodyte*（Graeser）（Lepidoptera: Notodontidae）. *Acta Entomologica Sinica*，49(3)：381－386.［郭同斌，嵇保中，蒋继宏，杜伟，诸葛强，黄敏仁，2006. 转基因杨树对杨小舟蛾体内三种保护酶活力的影响. 昆虫学报，49(3)：381－386］

Han LZ，Wu KM，Pen YF，Guo YY，2006. Research advances in ecological safety of insect-resistant transgenic rice. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*，12(3)：431－436.［韩兰芝，吴孔明，彭于发，郭予元，2006. 转基因抗虫水稻生态安全性研究进展. 应用与环境生物学报，12(3)：431－436］

Jiang YH，Fu Q，Chen JA，Zhu ZR，Jiang MX，Ye GY，Zhang ZT，2004. Dynamics of Cry1Ab protein from transgenic Bt rice in herbivores and their predators. *Acta Entomologica Sinica*，47(4)：454－460.［姜永厚，傅强，程家安，祝增荣，蒋明星，叶恭银，张志涛，2004. 转 Bt 基因水稻表达的毒蛋白 Cry1Ab 在害虫及其捕食者体内的积累动态. 昆虫学报，47(4)：454－460］

Li ZZ，Shen HJ，Jiang QG，Ji BZ，1994. A study on the activities of endogenous enzymes of protective system in some insects. *Acta Entomologica Sinica*，37（4）：399－403.［李周直，沈惠娟，蒋巧根，嵇保中，1994. 几种昆虫体内保护酶系统活力的研究. 昆虫学报，37（4）：399－403］

Lozinskaya YL，Slepneva IA，Khramtsov VV，Glupov VV，2004. Changes of the antioxidant status and system of generation of free radicals in hemolymph of *Galleria mellonella* larvae at microsporidiosis. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*，40（2）：119－125.

Simon LM，Fatrai Z，Jonas DE，Matkovics B，1974. Study of peroxide metabolism enzymes during the development of *Phaseolus vulgris*. *Biochem. Physiol.*，166：388－392.

Wang CB，2003. Quantitative analysis of proteins. In：Wang CB ed. Experimental Technology of Practical Biochemistry and Molecular Biology. Hubei Science and Technology Press，Wuhan. 202－204.［王淳本，2003. 蛋白质的定量测定. 见：王淳本主编. 实用生物化学与分子生物学实验技术. 武汉：湖北科学技术出版社. 202－204］

Wang YQ，2006. Analysis on the occurrence and development of rice diseases and insects in China. *Chinese Agricultural Science Bulletin*，22（2）：343－347.［王艳青，2006. 近年来中国水稻病虫害发生及趋势分析. 中国农学通报，22(2)：343－347］

Xu YL，Wang ZY，He KL，Bai SX，2006. Effects of transgenic Bt corn expressing cry1Ab toxin on activities of some enzymes in larvae of the Asian corn borer，*Ostrinia furnacalis*（Guenée）（Lepidoptera: Pyralidae）. *Acta Entomologica Sinica*，49(4)：562－567.［徐艳玲，王振营，何康来，白树雄，2006. 转 Bt 基因抗虫玉米对亚洲玉米螟幼虫几种主要酶系活性的影响. 昆虫学报，49(4)：562－567］

Yang YC，Zhou QM，2003. Advances of the research on rice gene transformation. *Journal of Hunan Agricultural University（Natual Sciences）*，29(1)：85－88.［杨友才，周清明，2003. 转基因水稻研究进展. 湖南农业大学学报(自然科学版)，29(1)：85－88］

Zhu XS，Zhu YX，1997. Proceeding in plant anti-insect genetic engineering. *Acta Botanica Sinica*，39(3)：282－288.［朱新生，朱玉贤，1997. 抗虫植物基因工程研究进展. 植物学报，39(3)：282－288］

（责任编辑：赵利辉）